

누룩으로부터 오르니틴 생성능을 갖는 *Pediococcus* 속 균주의 분리 및 오르니틴 함유 막걸리의 3T3-L1 세포의 중성지방 축적 억제 효과

육진선¹ · 오석흥² · 김수곤² · 이요셉² · 문은경³ · 차연수¹

¹전북대학교 식품영양학과

²우석대학교 식품생명공학과

³(유)대신환경개발 그린바이오식품사업부

Isolation of *Pediococcus* Strain from Nuruk and Anti-Lipid Accumulation Effect of Ornithine-Containing Makgeolli on 3T3-L1 Cells

Jin-Seon Yook¹, Suk-Heung Oh², Su-Gon Kim², Jo-Seph Lee², Eun-Gyung Mun³, and Youn-Soo Cha¹

¹Department of Food Science and Human Nutrition, Chonbuk National University

²Department of Food & Biotechnology, Woosuk University

³Dae shin Environment Development Co., Ltd., Green Bio Food Department

ABSTRACT To evaluate the functional effect of ornithine produced by isolated lactic acid bacteria, we examined the anti-lipid accumulation effect of ornithine produced by isolate lactic acid bacteria on 3T3-L1 cells. Lactic acid bacteria (*Pediococcus* strain) were isolated from nuruk, which is made from wheat, rice, and barley (whole grain, grits, or flour) by fermenting microorganisms (*Aspergillus*, *Rhizopus*, and yeasts). *Pediococcus* strain was identified by 16S rDNA sequencing analyses, and cells were collected by centrifugation and developed as an ornithine starter. makgeolli, an ornithine-containing Korean traditional alcoholic beverage, was made with isolated lactic acid bacteria and arginine. makgeolli was made with the help of ornithine starter using a makgeolli making kit. We evaluated the anti-proliferation effect of ornithine makgeolli on 3T3-L1 cells. To determine the anti-proliferation effect of ornithine makgeolli on preadipocytes, lipid droplets were quantified and stained with Oil Red O. makgeolli made with ornithine starter and arginine showed a 3-fold higher concentration of ornithine compared to makgeolli without starter and arginine. In the results of 3T3-L1 cell line experiment, lipid accumulation was significantly reduced by adding 0.05 mg/mL of ornithine makgeolli compare to the control (adipocyte without sample). In conclusion, ornithine makgeolli containing ornithine starter isolated from nuruk showed an anti-lipid accumulation effect with increased ornithine content without toxicity.

Key words: makgeolli, ornithine, arginine, lipid accumulation, *Pediococcus*

서 론

한국의 전통적인 발효주인 '막걸리'는 탁주 또는 농주(農酒)라고도 하며 이것은 찹쌀, 멥쌀, 보리, 밀가루 등을 찌서 누룩과 물을 섞어 발효시킨 술덧을 여과하지 않고 혼탁하게 만들어낸 곡주이다(1). 막걸리는 발효 후 여과과정을 거치지 않은 특성 탓에 발효에 참여한 효모, 유산균 등이 포함되어 있는 발효산물 전체를 음용하는 세계 유일의 술로서, 다른 주류에 비하여 알코올 도수가 상대적으로 낮아 위에 부담을 주지 않을뿐더러 단백질, 식이섬유 등이 풍부하게 함유되어 있다. 또한 다양한 유기산과 inositol, acetylcholine, ribo-

flavin, 비타민 B 복합체 등 다양한 생리활성 물질을 포함하고 있으며, 인체 내의 신진대사에 관여하는 10여 종의 필수 아미노산을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(2). 최근 막걸리의 건강기능성 관련한 연구로는 3T3-L1 세포주를 사용하여 분화 억제를 통한 항비만 효과, 항염증, 신생혈관생성 억제 효과(3)와 막걸리와 막걸리 지게미의 혈행 개선 효과(4) 등이 이루어지고 있다.

최근 기능성 식품에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 비만을 예방하는 기능성 식품에 관심이 많이 쏠리고 있다(5,6). 막걸리에도 이러한 기능성 식품에 대한 관심이 더해져 막걸리의 기능성 및 기호도가 증진되고 있다. 그에 따라 크레베리(7), 당귀 열수 추출물(8), 석류(9) 등과 같이 여러 기능성 물질을 넣은 막걸리에 관한 연구가 많이 이루어지고 있는 실정이다. 하지만 이러한 연구들은 품질평가에 그치고 기능성 효과를 증명하지 못하는 한계를 지니고 있다.

Received 1 June 2015; Accepted 13 July 2015

Corresponding author: Youn-Soo Cha, Department of Food Science and Human Nutrition, Chonbuk National University, Jeonbuk 54896, Korea

E-mail: cha8@jbnu.ac.kr, Phone: +82-63-270-3822

L-Ornithine은 식품에 통상적으로 함유되어 있는 아미노산으로 뇌하수체에서 성장호르몬의 분비를 촉진하여 탄수화물, 단백질, 지질의 대사를 활성화시켜(10,11) 근육 합성과 체내 지방의 대사를 촉진한다(12,13). 또한 미국에서 기초대사를 촉진시켜 비만을 예방하는 식품소재로 널리 사용되고 있다. 이외에도 다량영양소의 대사에 관여하는 역할뿐만 아니라 인슐린 분비의 증가(14)와 면역반응의 향상(15)에도 관여한다. 현재 ornithine에 관련된 항비만 연구는 지방축적 억제와 지질합성 관련 유전자의 감소에 대한 ornithine의 효과(*in vitro*)(16,17), 김치에서 분리한 ornithine의 항비만 효과(*in vivo*)(18)가 보고되어 있다.

다양한 기능성을 가진 L-ornithine은 ornithine 2-oxoglutarate(alpha-ketoglutarate; OKG)의 형태로 근육증강, 면역증진 및 비만예방 소재로 이용되고 있고, 간장장애를 개선하는 의약품으로는 ornithine-aspartate의 형태로 이용되고 있다(19,20). 일본에서는 식품소재로 L-ornithine 염산염의 사용이 가능하며 미국에서는 식이보조제로 사용이 가능하지만, 국내에서는 식약처에 ornithine이 식품첨가물로 등재되어 있지 않아 사용이 불가능한 실정이다(21). 그러므로 누룩으로부터 분리한 ornithine 생성 균주를 분리, 동정하고 ornithine 전구물질인 arginine을 첨가한 막걸리의 ornithine 함량을 증가시키면 막걸리의 영양 기능성을 향상시킬 수 있다. 이와 같은 ornithine이 강화된 식품의 지속적인 연구가 이루어진다면 우리나라에서도 ornithine이 식품첨가물로 사용될 수 있을 것이라 기대된다.

이에 따라 본 실험에서는 누룩에서 기능성을 가진 ornithine 생성능이 우수한 균주를 스크리닝 하여 ornithine 유산균 스타터를 개발하고 이를 막걸리에 첨가하여 제조하였다. 더 나아가 개발된 ornithine 막걸리의 기능성을 입증하기 위하여 *in vitro* 수준에서의 지방세포 분화 억제능을 보고자 하였다.

재료 및 방법

누룩 유래 ornithine 생성능 보유 유산균 *Pediococcus* 속 균주 분리

본 실험에서 사용한 누룩은 (유)대신환경개발 그린바이오식품(Gunsan, Korea)에서 제공하였으며 ornithine 생산능 보유 유산균의 분리에 사용하였다. 유산균의 분리는 100 mL MRS에 누룩을 1% 첨가한 뒤 25°C에서 48시간 배양 후 배양액을 1% 펩톤수로 10^{-1} ~ 10^{-8} 범위로 희석하였고, 희석액을 0.1 mL씩 분주하여 DE MAN, ROGOSA, SHARPE (MRS)(Difco, Detroit, MI, USA) 고체 배지에 배양하였다. 배지에는 0.002% bromophenol blue(BCP, Sigma-Aldrich Korea, Yongin, Korea)가 첨가되었고, 콜로니를 얻기 위해 25°C에서 48시간 동안 배양하였다. 콜로니 중에서 환을 형성하지 않으면서 진한 노란색을 띠는 것을 *Pediococcus* 속 후보균으로 분리하였다(22). 이어 ornithine 생성능 시험을

위하여 분리된 유산균을 1% arginine이 첨가된 MRS 배지에 배양(25°C, 48 h)하고 TLC를 이용하여 유산균의 ornithine 생성능을 조사하였다. TLC는 silica gel F₂₅₄(Merck, Darmstadt, Germany)와 표준 ornithine(Merck), 이동상(butanol : acetic acid : dichloromethanol : water=5:3:3:3)을 이용하여 실시하였다(21,23).

Ornithine 생산능이 있는 *Pediococcus* 균주 동정

Ornithine 생성능이 있는 누룩 유산균주 동정은 16S rDNA sequence 분석으로 하여 동정하였다(22). 균주 동정을 위해 후보 균주로부터 genomic DNA를 DNeasy Blood & Tissue kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)을 이용하였고, DNA의 정제는 제조사의 지침을 따라 추출하였다. 16S rDNA의 클로닝을 위해 5'-AGAGTTTGATCMTGGCT-CAG-3'(forward), 5'-ACGGGCGGGTGTGTRC-3'(reverse)의 primer를 이용하여 PCR 증폭을 시행하였다. PCR 증폭은 100 ng 주형 DNA, 0.5 μM의 프라이머 DNA, 0.2 mM dNTPs, 10×Ex Taq 완충액 및 Taq 중합효소 0.025 U/μL를 사용하여 95°C에서 30초 변성, 55°C에서 30초의 annealing, 72°C에서 1분 30초의 신장으로 하는 35 cycle을 Biometra Thermocycler(Biometra, Goettingen, Germany)로 증폭시켰다(21). PCR 산물을 1% 아가로스 겔 전기영동을 실시하여 확인하였다. 16S rDNA sequencing을 통해 염기서열 정보를 얻었다. 얻어진 16S rDNA의 서열 정보를 이용하여 NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 DNA의 상동성 조사에 활용하여 분석하였다.

Ornithine 함량 분석

Ornithine 추출은 Baum 등(24)이 사용한 아미노산 분석 방법을 변형하여 추출하였다. 간략하게 800 μL의 용매(methanol : chloroform : water=12:5:3)를 200±10 mg 시료에 가하여 혼합하였다. 혼합액을 원심분리(13,000×g, 4°C, 15 min) 하여 수용액 층인 상등액을 1차 회수하였고, 유기용매 층에 클로로포름과 물(1:2) 혼합액 600 μL를 가하여 혼합한 후 원심분리 하여 상등액을 2차 회수하였다. 1, 2차 회수한 상등액을 합하여 동결건조 하였고, 초순수로 용해하여 0.45 μm PVDF 막을 통과시킨 후 TLC 및 HPLC를 이용하여 ornithine 함유량을 비교하였다(23).

Ornithine 생성 유산균을 이용한 막걸리 kit(술익거든) 제조

Ornithine 생성 유산균을 MRS 배지 10 L에 25°C, 48시간 배양하고 원심분리(5,000 rpm, 10 min)를 통해 cell을 분리하여 수집하였다. 수집된 cell을 동결건조 하여 스타터를 제조하였다. (유)대신환경개발 그린바이오식품에서 생산되는 막걸리 kit(술익거든)에 수집된 스타터 0.5 g과 arginine 0.1 g을 첨가 또는 무첨가를 하여 혼합한 후 25°C에서, 72시간 발효하였다.

세포 배양

마우스 배아에서 유래한 3T3-L1 세포주(American Type Culture Collection(ATCC), Manassas, VA, USA)를 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 10% bovine serum(BS, Gibco, Grand Island, NY, USA)과 penicillin/streptomycin이 포함된 DMEM 배지로 배양하였다. 3T3-L1 preadipocyte는 신선한 배지로 2일마다 교환하였으며, 80~90% confluent 하게 되면 1 mM trypsin-EDTA(HyClone, Logan, UT, USA)를 처리하여 계대배양 하였다.

세포 독성 확인

본 실험에서 개발한 ornithine 막걸리가 3T3-L1 preadipocyte에 독성을 나타내는지 알아보기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 96-well culture plate에 2.5×10³ cells/well을 분주하여 24시간 동안 부착시킨 후 시료를 농도별로 처리하여 24, 48시간 동안 배양하였다. 시료 처리 후 시간별로 EZ-Cytox(Daeil Lab Service, Seoul, Korea) 시약이 포함된 배지로 교체하여 2시간 동안 반응시킨 후 microplate reader(MRX II, Dynex Technologies, Chantilly, VA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 증식율(%)은 시료처리군 흡광도/control군 흡광도의 평균×100으로 계산하였다.

Triglyceride 함량 측정과 Oil Red O 염색

3T3-L1 preadipocyte를 6-well culture plate에서 100% confluence 상태가 될 때까지 배양하고 2일 후 분화배지 [MDI solution(0.5 mM isobutylmethylxanthine(IBMx), 1 μM dexamethasone, 10 μg/mL insulin)]를 3일 동안 처리하였고 다시 10% FBS와 insulin(10 μg/mL)이 포함된 DMEM 배지로 교환한 후 배양하여 지방세포로 분화시켰다. Ornithine 막걸리 샘플은 0.05 mg/mL의 농도로 분화과정의 각 단계마다 처리하였다. 분화가 완료된 3T3-L1 세포를 PBS로 2회 세척하고 5% triton-X100으로 homogenize 한 후 heating과 cooling을 2회 반복하여 원심분리 하고 상등액을 취한 뒤 10배 희석하였다. Triglyceride quantifica-

tion kit(Biovision Inc., Mountain View, CA, USA)의 protocol에 따라 지방구 생성량을 측정하였다. 결과는 대조군(adipocyte control) 대비 증성지방축적율(%)로 나타내었으며, 시료처리군 TG 양/adipocyte 대조군 TG 양의 평균×100으로 계산하였다. Oil Red O 염색을 위해서 10% formalin으로 고정된 세포에 Oil Red O solution을 처리한 후 실온에서 30분간 염색하였다. 그 이후에 Oil Red O solution을 제거하고 증류수로 세척하여 건조시킨 후 현미경으로 관찰하였다.

통계방법

모든 실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, SPSS 12.0 package program(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA(analysis of variance)로 유의성 검정을 하고 *P*<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 통해 각 군 간의 차이를 검증하였다. 또한 두 그룹 간의 비교에 대한 데이터는 Independent *t*-tests를 실시하여 분석하였다(*P*<0.05).

결과 및 고찰

누룩으로부터 ornithine 생성능 보유 *Pediococcus* 속 균주 분리

누룩으로부터 분리한 유산균주의 ornithine 생성 가능성은 TLC를 이용하여 조사하였다. TLC를 통한 ornithine 후보 균주 17개 중 9개를 선별하여 arginine 전환이 우수한 균주를 2차 선별하여 염기서열 분석을 하고 가장 우수한 TNO-4를 선정하였다(Fig. 1, Table 1).

Ornithine 막걸리 함량 분석

Ornithine 생성 유산균인 *Pediococcus pentosaceus* TNO-4를 이용하여 제조한 막걸리의 ornithine 함량을 측정하였다. Arginine 무첨가 막걸리에서는 44.76±6.61 mg/100 g이었으며 arginine 첨가 막걸리 함량은 127.25±5.86 mg/100 g으로 arginine 첨가에 따른 ornithine 함량이 3배

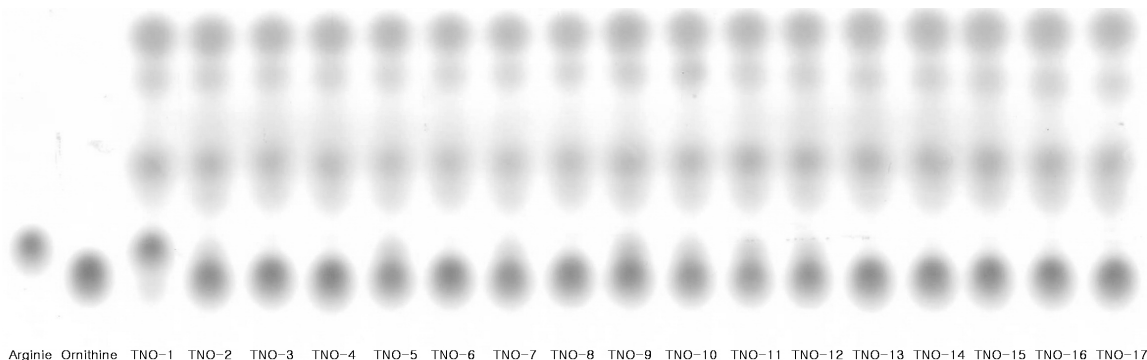


Fig. 1. Selection of *Lactobacilli* that have ability to produce ornithine using TLC. The strains were cultured in an MRS liquid medium with 1% arginine.

Table 1. Comparison of nucleotide sequences of *Pediococcus pentosaceus* strains

Query	366	ATCTTCACCAATGCACGCAAGTCTTGATCGAGCAACGCCGCGAGTGAAGAAGGATTT	425
Sbjct	314	ATCTTCACCAATGCACGCAAGTCTTGATCGAGCAACGCCGCGAGTGAAGAAGG-GTTT	371
Query	426	CGATCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAAGCGTGGTTCAGAGTAACCTGTTACCCAGT	485
Sbjct	372	CG-GCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAAGCGTGGTAAAGTAACCTGTTACCCAGT	430
Query	486	GACGGTATTTAACCGAAAGCCACGCGTAACCTACGTGCCAGCTGCCGCGGGAATACGTAG	545
Sbjct	431	GACGGTATTTAACCGAAAGCCACGCGTAACCTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG	490
Query	546	GTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGCGTAAAGCGAGCGAGCGCTCTTTTAAAGTC	605
Sbjct	491	GTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGCGTAAAGCGAGCGAGCGCGTCTTTTAAAGTC	549
Query	606	TAATGTGAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGAAAACCTGGGAGACTTGAGTGC	665
Sbjct	550	TAATGTGAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGAAAACCTGGGAGACTTGAGTGC	609
Query	666	AGAGGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGC-GTGAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC	724
Sbjct	610	AGAAAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGC-GTGAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC	669
Query	725	-AGT-GCGAAGGCGGCTGTCTGGTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAACATGGGTAGC	782
Sbjct	670	CAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAACATGGGTAGC	729
Query	783	GAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCATGC-GTAA-CGATGAT-ACT-AGTGTGGAGG	838
Sbjct	730	GAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCATGC-GTAA-CGATGAT-ACT-AGTGTGGAGG	789
Query	839	GATTCGCGCC-TCAGTGTGCAGCTA-CGCAT-A-GTA-TC-G-CTGGGGAGTACGAC-G	890
Sbjct	790	GTTTCGCGCCCTCAGTGTGCAGCTAAGCATTAAAGTAAATCCGCGCTGGGGAGTACGACCG	849
Query	891	CA-G-TTGAA-CTCAA-GA-T-GACGGGG-CTCGCTACA-GCG-TGAAGCATGTG-TG-A	939
Sbjct	850	CAAGGTTGAAACTCAAAGTTCGCGGGGGCCCGC-ACAAGCGGTGGAGCATGTGTTTA	908
Query	940	-T-CGA-GCTAC-CGA-GA-C-TAAC-AGC-C-TGACATCTTCTGACAG-CTA-GAAATC	987
Sbjct	909	ATTGGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGCATCTTCTGACAGCTAAGAGATT	968
Query	988	A-AGGT-CCCT-CGGTAC-GAATGACAGG-G-TGCATGGT-GTCGTGACGCTAGTGC-G	1039
Sbjct	969	AGAGGTTCCCTTCGGGACAGAAATGACAGGTTGGTGCATGGTGTGTCAGCTGTTGTCGTG	1028
Query	1040	A-ATGT-GG-T-A-GTC-GCA-CGAG-GCAAC--TTAT-ATCAGTTGC-AGCAT	1081
Sbjct	1029	AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAGCGGCAACCCCTTATTACTAGTTGCCAGCAT	1083

Query 366, rDNA sequences of *Pediococcus pentosaceus* TNO-4 selected in this study.

증가되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). Ornithine 생성 유산균인 *Pediococcus pentosaceus* TNO-4는 arginase 또는 arginine deiminase를 이용하여 ornithine의 전구물질인 arginine을 전환시켜 ornithine을 생성하는 것으로 판단된다(21,24).

세포 독성 시험

MTT assay는 지방세포 분화 전 지방전구세포의 세포증

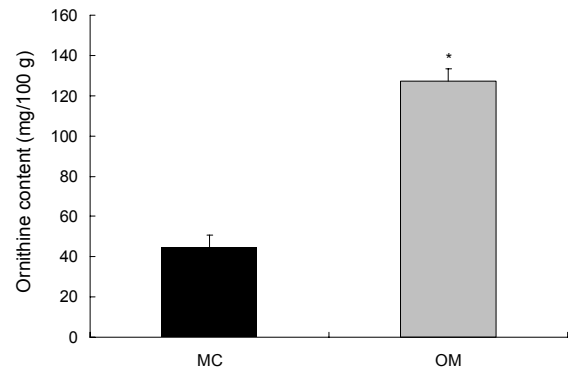


Fig. 2. Ornithine contents in makgeolli with or without arginine. Data are expressed as mean±SD. MC, makgeolli without arginine; OM, makgeolli with arginine. Ornithine content of OM compared with MC by independent *t*-test (**P*<0.05).

식 활동을 측정하는 실험이다. 시료를 처리하지 않은 control의 초기 성장률(100%) 대비 다양한 농도의 시료 처리 후 24시간과 48시간의 세포성장률의 측정 결과는 Fig. 3에 나타내었다. Ornithine 막걸리의 처리 농도와 배양시간에 따라 유의 차이가 없는 것을 확인할 수 있는데, 이는 ornithine 막걸리의 처리가 preadipocytes의 세포사멸에 관여하지 않고 독성을 나타내지 않았다고 해석할 수 있으며, 분화 억제를 위한 시료 처리 시 참고하였던 Lee 등(3)의 지방전구세포의 결과와도 일치한다.

지방세포의 중성지방축적량

전구지방세포에 MDI(IBMx, dexamethasone, insulin)와 같은 분화유도물질을 처리하여 호르몬과 영양을 과잉 공급하여 지방세포로의 분화를 유도한다. 지방세포 크기는 한계가 있기 때문에 과잉의 영양공급 시 에너지의 신속한 저장을 위하여 지방세포 수의 증가가 일어나며 지방이 축적된다(25). 지방세포 분화 유도 시 ornithine 막걸리 0.05 mg/mL의 농도를 처리하여 중성지방 농도를 측정함으로써 지방세

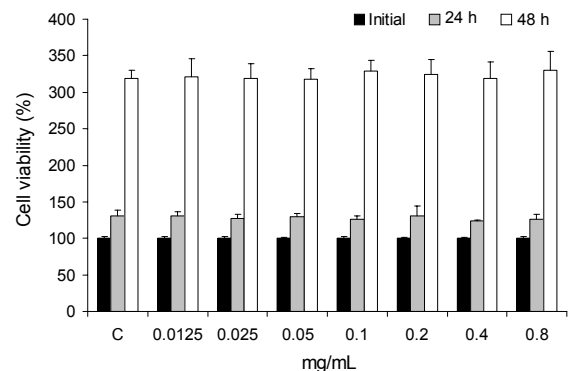


Fig. 3. Effects of ornithine contained makgeolli on preadipocyte viability. Cell viability was measured by MTT assays and calculated as relative values vs. control (0 mg/mL) cells at the initial time point. Data are expressed as mean±SD. C: control without sample.

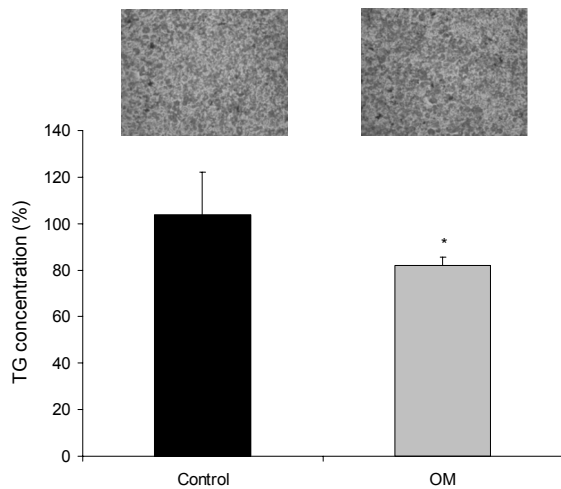


Fig. 4. Lipid accumulation of differentiated adipocytes treated with or without ornithine contained makgeolli. Data are expressed as mean±SD and treatment group (ornithine contained makgeolli 0.05 mg/mL) compared with untreated adipocyte control ($P<0.05$) by independent *t*-test. Control, no sample treatment group; OM, ornithine contained makgeolli treatment group.

포 분화에서의 영향을 평가하였다. 분화 시 처리되었던 농도는 시중 막걸리에서 10~50% 중성지방축적 저해 효과를 보였던 농도를 따라 설정하였다(3). Fig. 4와 같이 ornithine 막걸리 처리 시 샘플을 처리하지 않은 대조군에 비해 중성지방축적량이 유의적으로 감소하였고, OM(82.09±3.39%)은 control(103.84±18.34%) 대비 약 20%의 지방구 형성 감소를 나타냈다. 이는 상기의 시판 막걸리의 전구지방 세포 분화 억제 효과와 일치하는 결과를 나타냈다. 지방세포 수의 증가와 지방의 과잉축적은 비만의 원인이 된다. 따라서 지방세포의 분화 정도뿐만 아니라 세포 안의 지방축적을 억제하는 것은 지질대사 개선과 항비만 효과에 일조한다(26). 따라서 세포 수준에서 중성지방축적 억제 효과가 있는 ornithine 막걸리의 지질 수준 개선의 가능성을 시사하는 결과로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 누룩에서 ornithine 생성능을 보유하고 있는 *Pediococcus* 속 균주를 동정하고, ornithine 생성 유산균인 *Pediococcus pentosaceus* TNO-4를 이용하여 막걸리를 제조하였다. Ornithine의 전구물질인 arginine과 *Pediococcus pentosaceus* TNO-4를 첨가하여 제조한 ornithine 함유 막걸리의 ornithine 함량을 측정하고 세포 수준에서의 지방구 형성 억제 효과를 통한 항비만 효과를 평가하였다. Ornithine 막걸리의 ornithine 함량은 일반 막걸리에 비하여 3배 증가되었으며, 세포 실험 결과 0.05 mg/mL 농도의 ornithine 막걸리를 3T3-L1 세포에 처리하였을 때 독성이 없는 수준에서 유의적으로 지방구 형성을 억제하는 것을 관찰하였다. 본 연구를 바탕으로 후속 연구가 이루어진다

면 기능성 물질이 강화된 우리나라 전통술인 막걸리를 통하여 지질축적 억제를 통한 항비만 효과를 기대해 볼 수 있을 것이라 사료된다. 더 나아가서 기능성이 부각된 막걸리의 개발을 통하여 막걸리 시장에 새로운 판로를 개척할 수 있고, 누룩에서 분리된 ornithine 생성능을 가진 유산균은 막걸리 이외에 여러 가지 발효식품에도 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 기능성 막걸리 제조 세트 및 그 유래 기능성 음료 제형개발을 위한 연구의 일환으로 (유)대신환경개발 그린바이오식품과 지역특화산업육성사업 기술개발 사업으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Lee SW. 2010. Making brand of Korean alcoholic beverage, Makgeolli. *Marketing* 44: 53-64.
- Lee SJ, Shin WC. 2011. Physiological functionalities of Makgeolli (Korean paradox). *Food Sci Ind* 44: 2-11.
- Lee SJ, Kim JH, Jung YW, Park S, Shin WC, Park CS, Hong SY, Kim GW. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial makgeolli. *Korean J Food Sci Technol* 43: 206-212.
- Shin MO, Kim MH, Bae SJ. 2010. The effect of Makgeolli on blood flow, serum lipid improvement and inhibition of ACE *in vitro*. *J Life Sci* 20: 710-716.
- Palou A, Picó C, Bonet ML. 2004. Food safety and functional foods in the European Union: obesity as a paradigmatic example for novel food development. *Nutr Rev* 62: S169-S181.
- You SY. 2009. Healthy functional food consumption for overweight and obese Koreans. *Korean J Community Living Sci* 20: 503-514.
- Ha NL, Jang ML, Yun HC. 2013. Quality characteristics of Makgeolli supplemented with cranberries. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 85-91.
- Jang ML, Ha NL, Yun HC. 2013. Quality characteristics of makgeolli using *Angelica gigas* Nakai water extracts. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 332-340.
- Kim BH, Eun JB. 2012. Physicochemical and sensory characteristics of makgeolli with pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate added. *Korean J Food Sci Technol* 44: 417-421.
- Evain-Brion D, Donnadiou M, Roger M, Job JC. 1982. Simultaneous study of somatotrophic and corticotrophic pituitary secretions during ornithine infusion test. *Clin Endocrinol* 17: 119-122.
- Davidson MB. 1987. Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocr Rev* 8: 115-131.
- Edmonds MS, Lowry KR, Baker DH. 1987. Urea cycle metabolism: effects of supplemental ornithine or citrulline on performance, tissue amino acid concentrations and enzymatic activity in young pigs fed arginine-deficient diets. *J Anim Sci* 65: 706-716.
- Zajac A, Poprzecki S, Zebrowska A, Chalimoniuk M, Langfort J. 2010. Arginine and ornithine supplementation increases growth hormone and insulin-like growth factor-1 serum levels after heavy-resistance exercise in strength-trained

- athletes. *J Strength Cond Res* 24: 1082-1090.
14. Sener A, Best LC, Yates AP, Kadiata MM, Olivares E, Louchami K, Jijakli H, Ladrière L, Malaisse WJ. 2000. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release. *Endocrine* 13: 329-340.
 15. Kawai Y, Takasuka N, Inoue K, Akagawa K, Nishijima M. 2000. Ornithine-containing lipids stimulate CD14-dependent TNF- α production from murine macrophage-like J774.1 and RAW 264.7 cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 28: 197-203.
 16. Cha YS, Tirupathi Pichiah PB, Moon YJ, Oh SH. 2010. *Lactobacillus* bacteria strain *Weissella koreensis* OK1-6 mediated inhibition of intracellular lipid accumulation in 3T3-L1 cells: A plausible approach to obesity management. *FASEB* 24: 1.
 17. Moon YJ, Soh JR, Yu JJ, Sohn HS, Cha YS, Oh SH. 2012. Intracellular lipid accumulation inhibitory effect of *Weissella koreensis* OK1-6 isolated from Kimchi on differentiating adipocyte. *J Appl Microbiol* 113: 652-658.
 18. Park JA, Tirupathi Pichiah PB, Yu JJ, Oh SH, Daily JW, Cha YS. 2012. Anti-obesity effect of kimchi fermented with *Weissella koreensis* OK1-6 as starter in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *J Appl Microbiol* 113: 1507-1516.
 19. Müting D, Kalk JF, Klein CP. 1992. Long-term effectiveness of high-dosed ornithine-aspartate on urea synthesis rate and portal hypertension in human liver cirrhosis. *Amino Acids* 3: 147-153.
 20. Robinson LE, Bussière FI, Le Boucher J, Farges MC, Cynober LA, Field CJ, Baracos VE. 1999. Amino acid nutrition and immune function in tumour-bearing rats: a comparison of glutamine-, arginine- and ornithine 2-oxoglutarate-supplemented diets. *Clin Sci* 97: 657-669.
 21. Yu JJ, Park HJ, Kim SG, Oh SH. 2009. Isolation, identification, and characterization of *Weissella* strains with high ornithine producing capacity from kimchi. *Kor J Microbiol* 12: 339-345.
 22. Kawai Y, Nakagawa Y, Matuyama T, Akagawa K, Itagawa K, Fukase K, Kusumoto S, Nishijima M, Yano I. 1999. A typical bacterial ornithine-containing lipid N^ω-(D)-[3-(hexadecanoyloxy)hexadecanoyl]-ornithine is a strong stimulant for macrophages and a useful adjuvant. *FEMS Immunol Med Microbiol* 23: 67-73.
 23. Yu JJ. 2012. Study on the isolation and application of functional lactic acid bacteria from traditional and fermented foods. *MS Thesis*. Woosuk University, Jeonju, Korea.
 24. Baum G, Lev-Yadun S, Fridmann Y, Arazi T, Katsnelson H, Zik M, Fromm H. 1996. Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation and GABA metabolism and normal development in plants. *EMBO J* 15: 2988-2996.
 25. Kim KH, Ahn SC, Lee MS, Kweon OS, Oh WK, Kim MS, Sohn CB, Ahn JS. 2003. Adipocyte differentiation inhibitor isolated from the barks of *Phellodendron amurense*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 503-509.
 26. Ntambi JM, Kim YC. 2000. Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr* 130: 3122S-3126S.